BULLETIN du MUSÉUM NATIONAL d'HISTOIRE NATURELLE

PUBLICATION BIMESTRIELLE

sciences physico-chimiques

4

N° 329 SEPTEMBRE-OCTOBRE 1975

BULLETIN
du
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
57, rue Cuvier, 75005 Paris

Directeur : Pr M. Vachon.
Comité directeur : Prs Y. Le Grand, C. Lévi, J. Dorst.
Rédacteur général : Dr M.-L. Bauchot.
Secrétaire de rédaction : Mme P. Dupérier.
Conseiller pour l'illustration : Dr N. Hallé.

Le *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, revue bimestrielle, paraît depuis 1895 et publie des travaux originaux relatifs aux diverses branches de la Science.

Les tomes 1 à 34 (1895-1928), constituant la 1re série, et les tomes 35 à 42 (1929-1970), constituant la 2e série, étaient formés de fascicules regroupant des articles divers.

A partir de 1971, le *Bulletin* 3e série est divisé en six sections (Zoologie — Botanique — Sciences de la Terre — Sciences de l'Homme — Sciences physico-chimiques — Écologie générale) et les articles paraissent, en principe, par fascicules séparés.

S'adresser :

— pour les **échanges,** à la Bibliothèque centrale du Muséum national d'Histoire naturelle, 38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris (C.C.P., Paris 9062-62) ;

— pour les **abonnements et les achats au numéro,** à la Librairie du Muséum 36, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris (C.C.P., Paris 17591-12 — Crédit Lyonnais, agence Y-425) ;

— pour tout ce qui concerne la **rédaction,** au Secrétariat du *Bulletin*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris.

Abonnements pour l'année 1975

Abonnement général : France, 440 F ; Étranger, 484 F.
Zoologie : France, 340 F ; Étranger, 374 F.
Sciences de la Terre : France, 90 F ; Étranger, 99 F.
Botanique : France, 70 F ; Étranger, 77 F.
Écologie générale : France, 60 F ; Étranger, 66 F.
Sciences physico-chimiques : France, 20 F ; Étranger, 22 F.

International Standard Serial Number (ISSN) : 0027-4070.

BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
3e série, nº 329, septembre-octobre 1975, Sciences physico-chimiques 4

Note préliminaire sur les pigments fluorescents de quelques Poissons marins de profondeur

par Michel Rannou * et C. Lima-Zanghi *

Résumé. — La chromatographie sur papier des pigments fluorescents de cinq Poissons bathypélagiques et de deux Poissons bathybenthiques a permis d'isoler la riboflavine et sept ptérines. Les voies métaboliques sont liées à la position systématique ou à l'écologie des espèces.

Abstract. — Riboflavine and seven pterines were isolated by paper chromatography of tissues of five bathypelagic and two bathybenthic Fishes. The metabolic pathways are related to the evolution of the species or to their ecology.

Introduction

On possède peu de données sur la composition chimique des Poissons marins de profondeur. Love (**1**) ne signale que huit espèces ayant fait l'objet d'une étude détaillée :

Coelorhynchus coelorhynchus (Macrouridae) : vitamines A_1 et A_2
Coelorhynchus multispinulosus : riboflavine
Diaphus coeruleus (Myctophidae) : vitamine A
Macrourus berglax (Macrouridae) : fer, oxyde de triméthylamine
Notacanthus nasus (Notacanthidae) : fer, triméthylamine, oxyde de triméthylamine
Synaphobranchus affinis (Synaphobranchidae) : vitamine A
Synaphobranchus kaupi : fer
Trachypterus sp. (Trachypteridae) : vitamine A

Nous présentons ici une étude qualitative des pigments fluorescents chez sept Téléostéens bathypélagiques et bathybenthiques récoltés au cours d'une campagne du N.O. « Jean Charcot » en Méditerranée occidentale (Le Gall et L'Herroux (**2**) ; Geistdoerfer et Rannou (**3**)).

Matériel

Clupéiformes

Chauliodontidae : *Chauliodus* sp., Poisson pélagique se rencontrant à toute profondeur. Le corps est sombre, couvert d'écailles et d'un épais mucus.

* M. Rannou, *Laboratoire de Dynamique des Populations aquatiques, Muséum national d'Histoire naturelle, 57, rue Cuvier, 75231 Paris.*
Adresse actuelle : Laboratoire d'Hydrobiologie Marine, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, place E. Bataillon, 34060 Montpellier-Cédex.
C. Lima-Zanghi, *Institut Océanographique, 195, rue Saint-Jacques, 75005 Paris.*

Gonostomatidae : *Ichthyococcus ovatus*, Poisson bathypélagique vivant à plus de 500 m de profondeur, couvert d'écailles.

Sternoptychidae : *Argyropelecus hemigymnus*, Poisson pélagique argenté vivant à des profondeurs variées ; écailles très fines et caduques.

Stomiatidae : *Stomias* sp., Poisson pélagique plus abondant vers 300-500 m. Le corps est sombre, garni de fines écailles recouvertes d'une membrane transparente.

Myctophidae : *Lampanyctus crocodilus*, espèce bathypélagique et couverte d'écailles.

Gadiformes

Macrouridae : *Chalinura mediterranea*. Poisson benthique récolté à plus de 2 000 m. Le corps, beige clair, est couvert d'écailles caduques ornées de spinules.

Perciformes

Brotulidae : *Cataetyx laticeps*. Poisson benthique écailleux, de couleur rouge brique, récolté à plus de 2 000 m.

Techniques

Les Poissons sont congelés dès leur arrivée à bord. Au laboratoire ils sont décongelés pour le prélèvement des organes. Le poids frais est de 0,2 à 0,4 g pour les yeux, 2 à 5 g pour la peau, 1,3 à 1,6 g pour le foie. Les Poissons : *Chauliodus*, *Ichthyococcus*, *Lampanyctus* et *Stomias* ont été broyés en entier en raison de leur poids très faible.

A. — Délipidation

Après un séjour d'au moins douze heures dans l'alcool éthylique absolu, les tissus sont broyés dans le mélange éther-acétone (3 : 1). Le broyat est récolté sur filtre Büchner et l'opération est répétée jusqu'à délipidation complète.

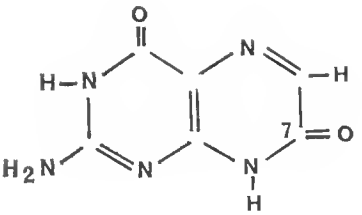
B. — Extraction des pigments fluorescents

Le broyat est repris dans 100 cm³ du mélange n-butanol-acide acétique-eau (80 : 18 : 2) additionné de quelques gouttes de thiodiglycol pour diminuer les risques d'oxydation. Après dix minutes d'agitation, on extrait une seconde fois par la même quantité de solvant, puis une troisième fois dans 50 cm³ d'eau bouillante.

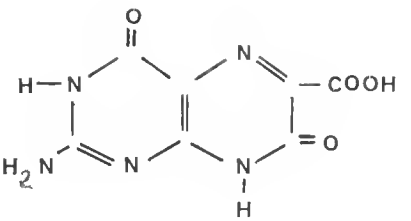
Par évaporation sous vide à 40°C, chaque extrait est ramené à un volume d'environ 1 cm³.

C. — Identification des pigments fluorescents

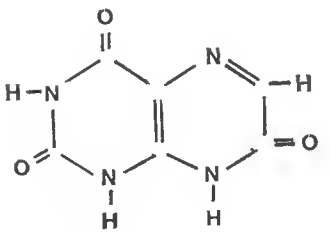
Les faibles quantités de tissus dont nous disposions ne nous ont pas permis d'effectuer des chromatographies sur colonne, méthode qui aboutit à des séparations plus fines. Les



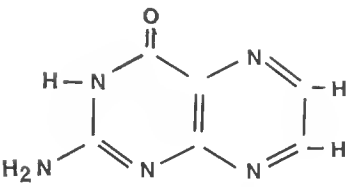
isoxanthoptérine



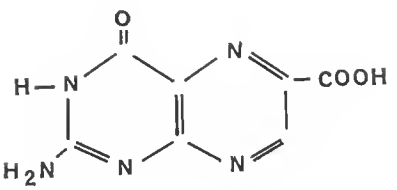
carboxy-6 isoxanthoptérine



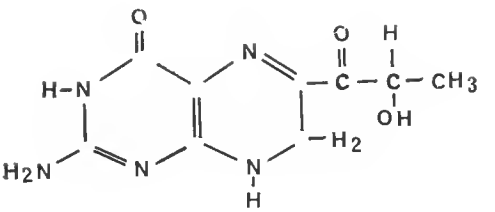
isoxantholumazine (violaptérine)



amino-2 oxy-4 ptéridine

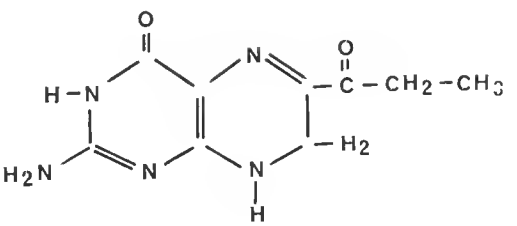


carboxy-6 ptérine



sépiaptérine

isosépiaptérine



extraits ont été chromatographiés sur papier Watman n° 1 par chromatographie ascendante bidimentionnelle. Le système de solvants employé dans la première dimension est le n-butanol-acide acétique-eau (20 : 3 : 7) : BAE. Cette première migration permet de bien séparer les substances mais ne peut servir à mesurer les valeurs de Rf. Les chromatogrammes sont développés une seconde fois dans le système de solvants : n-propanol-ammoniaque à 1 % (2 : 1) : PA, en introduisant des substances témoin.

Des chromatographies unidimentionnelles ont été réalisées sur des plaques de couche mince de cellulose MN 300 F_{254} (Macherey, Nagel & Co) en mettant côte à côte l'extrait à étudier, un témoin et un mélange des deux. Les solvants utilisés sont le PA et le citrate de sodium à 4 %.

Les chromatogrammes sont séchés puis lus en lumière ultraviolette : 365 et 254 nm, avec une lampe Mineralight UV-SL-13.

Résultats

Des taches fluorescentes et des taches absorbantes apparaissent en lumière ultraviolette. Ces dernières correspondent aux purines. Les taches fluorescentes sont dues à deux types de substances assez proches : les flavines et les ptérines. Parmi les premières, seule la riboflavine (vitamine B_2) a été mise en évidence. Elle forme toujours une tache très nette sur les chromatogrammes indiquant ainsi sa forte concentration chez toutes les espèces et dans tous les organes étudiés. Les composés de type ptérinique sont plus nombreux. Nous avons pu identifier : l'amino-2 oxy-4 ptéridine, l'isoxanthoptérine, la carboxy-6 ptérine, la carboxy-6 isoxanthoptérine, la sépiaptérine, l'isosépiaptérine, et une lumazine, l'isoxantholumazine = violaptérine = 7-oxolumazine (fig. 1).

Le tableau I indique la répartition de ces substances dans les organes des différentes espèces.

Tableau I. — Pigments fluorescents mis en évidence chez quelques Poissons de profondeur.

	R	I	I_6	V	S	IS	P	P_6
Chauliodus	+				+	+	+	
Ichthyococcus	+	+	+					+
Argyropelecus : yeux	+	+	+	+				
corps sans yeux	+	+						
Stomias	+							
Lampanyctus	+	+		+			+	
Chalinura : foie	+							
peau	+				+	+	+	
yeux	+							
Cataetyx : foie	+						+	+
peau	+						+	+

R : riboflavine ; I : isoxanthoptérine ; I_6 : carboxy-6 isoxanthoptérine ; V : isoxantholumazine (violaptécine) ; S : sépiaptécine ; IS : isosépiaptérine ; P : amino-2 oxy-4 ptéridine ; P_6 : carboxy-6 ptérine.

Discussion

Les travaux sur les pigments et substances fluorescentes des Poissons ont concerné uniquement les espèces communes ; aucun travail n'a été effectué auparavant sur les pigments fluorescents des Poissons de profondeur. La présente étude montre l'existence de certaines de ces substances dans les yeux, la peau et le foie de ces animaux.

Les poids de tissus analysés sont très faibles ; seuls ont été mis en évidence les composés présents à de fortes concentrations, les autres ont pu échapper à l'analyse.

Les analyses quantitatives de la riboflavine effectuées chez de nombreux Poissons des couches marines superficielles (Love, (**1**) p. 22) pourraient être faites également chez les espèces profondes les plus communes.

Les ptérines mises en évidence peuvent être regroupées en deux catégories :

a) Des substances caractérisées par une oxydation en 7 de la ptéridine de départ. Ce sont :

— l'isoxanthoptérine ;

— la carboxy-6 isoxanthoptérine ; ce composé ne semble exister que chez les Poissons ; son métabolisme et son rôle sont inconnus ;

— l'isoxantholumazine, improprement appelée violaptérine. Les lumazines sont les précurseurs ou les produits de dégradation naturelle des riboflavines (Visconti, (**9**)) ; la ptérine et la lumazine correspondante sont souvent associées dans la nature.

b) Des dérivés non hydroxylés en position 7 :

— l'amino-2 oxy-4 ptéridine ou ptérine, qui est un précurseur de l'isoxanthoptérine (Forrest, Glassman et Mitchell, (**4**)) ; ces deux substances sont fréquemment associées par exemple dans les ailes du papillon ptéride *Apias nero* (Pfleiderer, (**5**)), mais nous n'avons pas observé leur présence simultanée chez toutes les espèces de Poissons ;

— la carboxy-6 ptérine. C'est probablement un produit d'oxydation des polyhydroxyalkyl-6 ptérines labiles et surtout de leurs dérivés tétrahydrogénés. Cette oxydation se produit soit *in situ*, soit le plus souvent au cours des manipulations.

— la sépiaptérine. Elle a un rôle biologique important (Hama et Goto (**6**) ; Matsumoto et coll., (**7**)) et peut être enzymatiquement convertie en dihydrobioptérine (Matsubara et coll., (**8**)).

— l'isosépiaptérine. Selon Matsubara et coll. (**8**) ce serait un produit de la réduction de la sépiaptérine en dihydrobioptérine. Ce n'est pas une substance de croissance pour *Crithidia*.

On a pu montrer chez des animaux de différents groupes, notamment les Crustacés marins (Lima-Zanghi, (**10**)), l'existence de plusieurs voies métaboliques liées à la position systématique des espèces. On peut remarquer ici (tabl. I) que les substances de notre groupe a), caractérisées par une oxydation en 7 de la ptéridine de départ, sont présentes uniquement chez les 5 premières espèces qui appartiennent au groupe relativement primitif des Clupéiformes : on ne les rencontre pas chez *Chalinura* et *Cataetyx*, plus évoluées. Mais il faut noter aussi que les cinq Clupéiformes étudiés sont bathypélagiques, tandis que *Chalinura* et *Cataetyx* sont bathybenthiques ; les seuls ptérines que l'on rencontre chez ces deux

espèces sont toutes des dérivés non hydroxylés en position 7. L'isoxanthoptérine dérivant de la ptérine par oxydation, une corrélation avec le milieu benthique, plus anaérobic que le pélagique, doit être envisagée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) M. R. Love, The chemical biology of fishes. Academic Press, London, 1970.
(2) J. Y. Le Gall et M. L'Herroux, *Rapp. Sci. Techn. CNEXO*, 1971, **1** : 1.
(3) P. Geistdoerfer et M. Rannou, *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 1972.
(4) H. S. Forrest, E. Glassman et H. K. Mitchell, *Science*, 1956, **124** : 725.
(5) W. Pfleiderer, *Angew. Chem.*, 1964, **76** (17) : 757.
(6) T. Hama et T. Goto, *C. r. Séanc. Soc. Biol.*, 1955, **149** : 859.
(7) J. Matsumoto, T. Kajishima et T. Hama, *Genetics*, 1960, **45** : 1177.
(8) M. Matsubara, S. Katoh, M. Akino et S. Kaufman, *Biochim. biophys. Acta*, 1966, **122** : 202.
(9) M. Visconti, *Naturforsch*, 1965, **20** : 327.
(10) C. Lima-Zanghi, 1973, *sous presse*.

Manuscrit déposé le 15 mai 1974.

Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 3e sér., nº 329, sept.-oct. 1975, Sciences physico-chimiques 4 : 1-6.

Achevé d'imprimer le 31 octobre 1975.

IMPRIMERIE NATIONALE

5 564 003 5

Recommandations aux auteurs

Les articles à publier doivent être adressés directement au Secrétariat du *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, 57, rue Cuvier, 75005 Paris. Ils seront accompagnés d'un résumé en une ou plusieurs langues. L'adresse du Laboratoire dans lequel le travail a été effectué figurera sur la première page, en note infrapaginale.

Le *texte* doit être dactylographié à double interligne, avec une marge suffisante, recto seulement. Pas de mots en majuscules, pas de soulignages (à l'exception des noms de genres et d'espèces soulignés d'un trait).

Il convient de numéroter les *tableaux* et de leur donner un titre ; les tableaux compliqués devront être préparés de façon à pouvoir être clichés comme une figure.

Les *références bibliographiques* apparaîtront selon les modèles suivants :

Bauchot, M.-L., J. Daget, J.-C. Hureau et Th. Monod, 1970. — Le problème des « auteurs secondaires » en taxionomie. *Bull. Mus. Hist. nat., Paris*, 2e sér., 42 (2) : 301-304.

Tinbergen, N., 1952. — The study of instinct. Oxford, Clarendon Press, 228 p.

Les *dessins* et *cartes* doivent être faits sur bristol blanc ou calque, à l'encre de chine. Envoyer les originaux. Les *photographies* seront le plus nettes possible, sur papier brillant, et normalement contrastées. L'emplacement des figures sera indiqué dans la marge et les légendes seront regroupées à la fin du texte, sur un feuillet séparé.

Un auteur ne pourra publier plus de 100 pages imprimées par an dans le *Bulletin*, en une ou plusieurs fois.

Une seule épreuve sera envoyée à l'auteur qui devra la retourner dans les quatre jours au Secrétariat, avec son manuscrit. Les « corrections d'auteurs » (modifications ou additions de texte) trop nombreuses, et non justifiées par une information de dernière heure, pourront être facturées aux auteurs.

Ceux-ci recevront gratuitement 50 exemplaires imprimés de leur travail. Ils pourront obtenir à leur frais des fascicules supplémentaires en s'adressant à la Bibliothèque centrale du Muséum : 38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris.

MUSEUM
NATIONAL
D'HIST.NAT.